

B1

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA

(11) N.º de publicación: **ES 2 065 290**
 (21) Número de solicitud: **9301714**
 (51) Int. Cl.⁵: **A61K 31/445**
C07D 211/60

(12)

SOLICITUD DE PATENTE

A1

(22) Fecha de presentación: **29.07.93**

(71) Solicitante/es:
**Consejo Superior de Investigaciones Científicas
 Serrano 117
 28006 Madrid, ES**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **01.02.95**

(72) Inventor/es: **González Aguilar, Antonio**

(43) Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
01.02.95

(74) Agente: **No consta**

(54) Título: **Utilización de inhibidores enzimáticos para el tratamiento de enfermedades causadas por parásitos.**

(57) Resumen:

Utilización de inhibidores enzimáticos para el tratamiento de enfermedades causadas por parásitos. El objeto de la invención es la utilización de ciertos inhibidores de una determinada actividad enzimática para el tratamiento de enfermedades producidas por el protozo parásito *Trypanosoma cruzi* o por los parásitos bacterianos *Chlamydia sp.* y *Legionella sp.* Se parte de haber encontrado que estos parásitos secretan al medio ciertas proteínas involucradas en el mecanismo de invasión celular. Estas proteínas poseen la actividad enzimática peptidil-prolil *cis/trans* isomerasa del tipo FKBP. El bloqueo de dicha actividad enzimática mediante inhibidores específicos conduce a dificultar la capacidad infectiva de los microorganismos y su supervivencia en el huésped. El empleo de los mencionados inhibidores puede ser de interés en la preparación de formulaciones farmacéuticas adecuadas para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, la clamidiasis o la neumonía atípica del legionario.

DESCRIPCION

Objeto de la invención

El protozo parásito *Trypanosoma cruzi* es el agente causante de la enfermedad de Chagas. Este *Trypanosoma* es transmitido por las heces de ciertos insectos hematófagos, penetrando en el huésped a través de la herida o por las mucosas. La forma infectiva del parásito, denominada triponastigote, se caracteriza por su capacidad para infectar prácticamente cualquier tipo de célula de mamífero, lo que sugiere que activa su propia fagocitosis por parte de la célula huésped. Por analogía, una situación similar se produce en la infección por los parásitos bacterianos *Chlamydia sp.* y *Legionella sp.*, causantes de infecciones cuya duración e intensidad dan lugar a sintomatologías asociadas a la clamidiasis y la neumonía atípica del legionario. Estos parásitos secretan ciertas proteínas con actividad enzimática que están involucradas en el mecanismo de invasión celular. El objeto de la presente invención es el uso de ciertos inhibidores de dicha actividad enzimática, lo que permitiría su utilización como agente terapéutico para el tratamiento de las enfermedades producidas por dichos parásitos.

Estado de la técnica

Según la organización Mundial de la Salud, la enfermedad de Chagas afecta a unos 20 millones de personas en el mundo. La fase crónica de la enfermedad se caracteriza por la aparición de megasíndromes (megacorazón, megacolon y megaeófago) que en la mayoría de los casos se resuelven en muerte del paciente. No hay terapia eficaz descrita contra esta enfermedad. El tratamiento, más eficiente en la fase aguda y poco eficaz en la crónica, consiste en la administración de benznidazol (Rochagan R07-1051, Radinil) o nitrofuranox (Lampit, Bayer 2502). Estos dos preparados farmacéuticos presentan grandes inconvenientes ya que ambos son relativamente tóxicos y su actividad terapéutica varía de unas cepas de *T. cruzi* a otras. Ello hace que no estén autorizados en ciertos países como los Estados Unidos. Los efectos secundarios asociados a su empleo quimioterapéutico son: molestias gastrointestinales, neuropatía periférica, anemia hemolítica en pacientes con deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, desorientación, convulsiones, insomnio e inquietud.

Por otro lado, es conocida la utilización de los inhibidores de nombre comercial FK 506 (Fujisawa), cuya fórmula se da en la figura 1, y rapamycin (MERCK, ver figura 2) como inmunosupresores, por ejemplo, para la prevención de rechazos en operaciones de trasplante (patentes europeas EP-497515 Y EP-401747). Estos compuestos son inhibidores de la actividad enzimática peptidil-prolil *cis/trans* isomerasa del tipo "FK 506 binding protein" (FKBP). Se han descrito asimismo derivados del FK 506 (patente europea EP-509753) que se emplean para contrarrestar posibles sobredosis de FK 506. Uno de ellos es el conocido comercialmente como L-685,818 (MERCK) [Journal. of Experimental Medicine, 176, pág. 751 (1992)]. Este derivado, cuya fórmula se muestra en la figura 3, presenta la mencionada actividad inhibidora, pero no es un

inmunosupresor siendo por tanto mucho menos tóxico que el FK 506.

Explicación de la invención

El objeto de la presente invención es la utilización de ciertos inhibidores de una determinada actividad enzimática para el tratamiento de enfermedades producidas por el protozo parásito *Trypanosoma cruzi* o por los parásitos bacterianos *Chlamydia sp.* y *Legionella sp.*.

Para ello se parte de haber encontrado que los triponastigotes secretan al medio una proteína, TcMIP (*Trypanosoma cruzi* Macrophage Infectivity Potentiator), involucrada en el mecanismo de invasión celular. Esta proteína posee la actividad enzimática peptidil-prolil *cis/trans* isomerasa del tipo FKBP. Mediante este tipo de actividad enzimática isomerasa se ejerce una función de aceleración del plegamiento de proteínas sustratos mediante la isomerización de enlaces aminoácido-prolina. La acción del TcMIP sobre alguna proteína sustrato en la célula huésped conduce a la activación de mecanismos involucrados en la entrada del parásito en dicha célula. Mediante el uso de anticuerpos específicos contra TcMIP recombinante producida en bacteria, se ha encontrado que esta proteína está implicada en el mecanismo de invasión de la célula huésped por el parásito. Más aún, utilizando un inhibidor específico de la actividad enzimática antes mencionada, se ha visto que dicha actividad es esencial para la citada invasión. La confirmación de la implicación de la proteína TcMIP en el mecanismo de invasión viene dada por pruebas de reforzamiento de la infección. Para ello se produce la proteína (TcMIP) en bacterias y se aporta al medio en que se encuentran los parásitos. El efecto observado es un refuerzo de la capacidad infectiva de los parásitos. De lo anterior se deduce que la posibilidad de bloquear dicha actividad enzimática mediante inhibidores específicos conduce a dificultar la capacidad infectiva de los microorganismos y su supervivencia en el huésped.

Entre los inhibidores que se pueden citar figuran FK 506, rapamycin y, en general, derivados de éstos que sean inhibidores de la actividad peptidil-prolil *cis/trans* isomerasa del tipo FKBP. No obstante, dado que el primer mecanismo de defensa del cuerpo humano contra la infección por estos parásitos es el sistema inmune del individuo, el potenteísimo efecto inmunosupresor del FK 506 y de algunos de sus derivados puede constituir un serio inconveniente para el tratamiento de los pacientes. Como se citó en el estado de la técnica se conocen algunos derivados, por ejemplo el L-685,818, que no son inmunosupresores y poseen muy baja toxicidad en modelos animales. Este tipo de inhibidores son los más indicados para el tratamiento por no afectar al sistema inmune del individuo.

Breve descripción de la figura

La figura 1 muestra la fórmula del inhibidor FK 506.

La figura 2 muestra la fórmula del inhibidor rapamycin.

La figura 3 muestra la fórmula del inhibidor L-685,818.

La figura 4 es una representación gráfica de la inhibición de la producción de triponastigote en

células epiteliales de simio mediante inhibidores de la actividad peptidil-prolil *cis/trans* isomerasa. **Modo de realización de la invención**

Para comprobar el efecto de los inhibidores de la actividad peptidil-prolil *cis-trans* isomerasa del tipo FKBP se ha comprobado como variaba el número de parásitos en forma infectiva al emplearse los citados inhibidores, en concreto FK 506. Al tratarse de pruebas "in vitro" el hecho de que el FK 506 sea un fortísimo inmunosupresor carece de relevancia.

En la figura 4 se da una gráfica del número de parásitos en forma infectiva (tripomastigote) presentes en células epiteliales infectadas de un simio en función del tiempo transcurrido desde el momento de la infección. Para poder apreciar más claramente el efecto de los dos inhibidores estudiados se incluye una prueba de control en la que la incubación se hizo en ausencia de cualquier compuesto inhibidor. Los compuestos utilizados

fueron ciclosporina A(CsA), un inhibidor de la actividad rotamasa que no es del tipo FKBP, en concentración 10 nM y el FK 506 a concentración 1nM.

Como puede apreciarse se da un claro efecto de inhibición de la producción de tripomastigotes en presencia del inhibidor de la actividad peptidil-prolil *cis-trans* isomerasa del tipo FKBP, esto es del FK 506, lo que confirma que dicha actividad es esencial para el mecanismo de invasión celular por los parásitos mencionados.

El empleo de los mencionados inhibidores puede ser de interés en la preparación de formulaciones farmacéuticas adecuadas para el tratamiento de las enfermedades causadas por los agentes patógenos *T. cruzi* y en algunos casos como alternativa al tratamiento con antibióticos utilizado contra los parásitos bacterianos *Chlamydia sp.* y *Legionella sp.*

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. La utilización de inhibidores enzimáticos para el tratamiento de las enfermedades causadas por los agentes patógenos *Trypanosoma cruzi*, *Chlamydia sp.* y *Legionella sp.* caracterizada porque son inhibidores de la actividad enzimática peptidil-prolil *cis/trans*isomerasa del tipo FKBP.

2. La utilización de inhibidores enzimáticos para el tratamiento de las enfermedades causa-

das por los agentes patógenos *Trypanosoma cruzi*, *Chlamydia sp.* y *Legionella sp.* según la reivindicación 1 caracterizada porque el inhibidor empleado es el FK 506.

5 3. La utilización de inhibidores enzimáticos para el tratamiento de las enfermedades causadas por los agentes patógenos *Trypanosoma cruzi*, *Chlamydia sp.* y *Legionella sp.* según la reivindicación 1 caracterizada porque el inhibidor empleado es el L-685,818.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

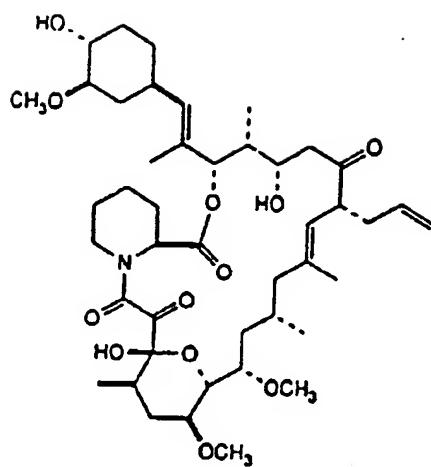


Figura 1

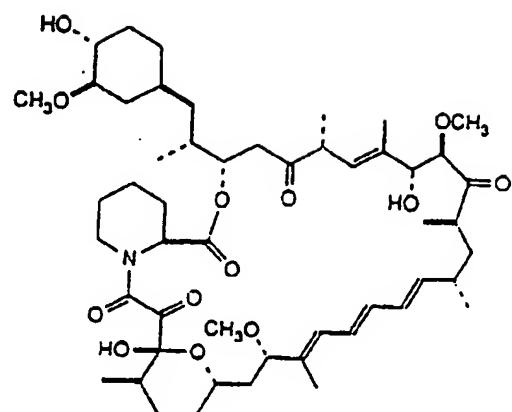


Figura 2

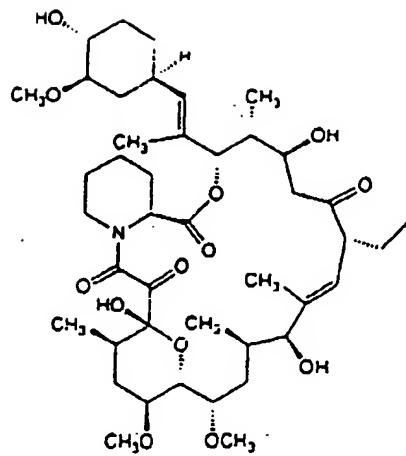


Figura 3

ES 2 065 290 A1

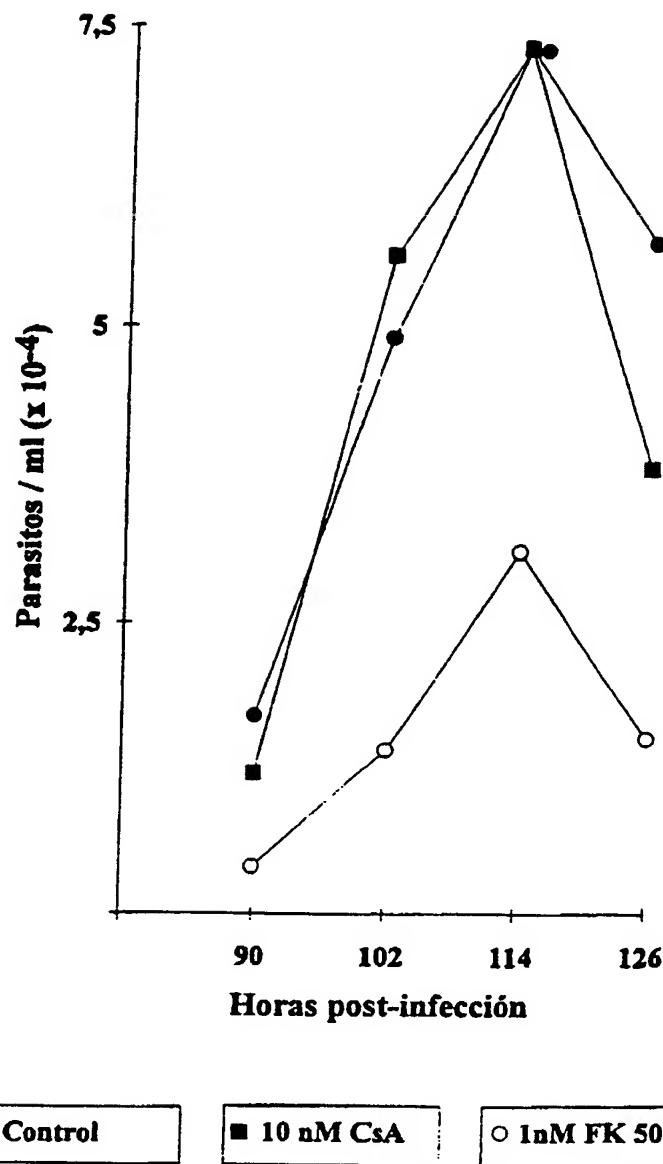


Figura 4



INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) Int. Cl.⁵: A61K31/445, C07D211/60

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO-A-92/00278 (VERTEX PHARMACEUTICAL INC.)	
A	WO-A-92/06992 (MERCK & CO.)	
A	THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 268, nº 15, mayo 1993, USA J.W. BECKER et al.: "FK-506-binding protein: three-dimensional structure of the complex with the antagonist I-685.818", págs.: 11335-11339.	
A	JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, vol. 176, septiembre 1992, USA F.J. DUMONT et al.: "The immunosuppressive and toxic effects of FK-506 are mechanistically related: pharmacology of a novel antagonist of FK-506 and rapamycin", págs.: 751-760.	

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe 15.11.94	Examinador A. Maquedano Herrero	Página 1/1
----------------------------------------------	------------------------------------	---------------

This Page Blank (uspto)